

**UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VORKOMMEN
UND DIE ÄTIOLOGIE KLINISCHER MASTITIDEN
IM "ATHERTON TABLELAND" VON AUSTRALIEN**

IRMGARD CHAMBERLAIN

1986



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Department of Veterinary Pathology
and Public Health
University of Queensland
Vorstand: Dr. A.J. Frost

vorgelegt über
das Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. mult. A. Mayr

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VORKOMMEN
UND DIE ÄTIOLOGIE KLINISCHER MASTITIDEN IM
"ATHERTON TABLELAND" VON AUSTRALIEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Irmgard Chamberlain
aus
Memmingen

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker
Referent: Prof. Dr. Dr. h. c. mult. A. Mayr
Korreferent: Prof. Dr. G. Terplan

Tag der Promotion: 25. Juli 1986

Meinen Eltern und
meinem Mann
in Dankbarkeit

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. SCHRIFTTUM	2
2.1. Verbreitung klinischer Mastitiden und wirtschaftliche Probleme in Australien	2
2.2. Spektrum der Infektionserreger	14
2.3. Bekämpfungsmaßnahmen	18
3. MATERIAL UND METHODEN	22
3.1. Gewinnung der Milchproben	22
3.2. Transport und Aufbewahrung der Milchproben	22
3.3. Weitere Informationen über die be- treffenden Herden	23
3.4. Laboruntersuchung der Milchproben	24
3.4.1. Bakteriologische Methoden	24
3.4.2. Virologische Methoden	26
3.4.3. Countercurrent-Immuno- elektrophorese (CIE)	28
4. ERGEBNISSE	31
4.1. Allgemeiner Überblick	31
4.2. Bakteriologische Resultate	44

	Seite
4.3. Virologische Resultate	44
4.4. Resultate der Countercurrent- Immunoelektrophorese	44
5. DISKUSSION	47
6. ZUSAMMENFASSUNG	54
SUMMARY	55
7. LITERATURVERZEICHNIS	56
Lebenslauf	

1. EINLEITUNG

Die Mastitis ist ein weltweites und wirtschaftlich sehr bedeutsames Problem in der Milchviehhaltung. Auch in Australien verursacht diese Krankheit jährlich immense Schäden.

Kontrollprogramme wurden entwickelt, um mit Hilfe von Antibiotika die Anzahl der Neuinfektionen einzudämmen und bestehende Infektionen zu behandeln. Diese Bekämpfungsmaßnahmen haben geholfen, bestimmte Erreger wie Staph. aureus und Strept. agalactiae zu kontrollieren; andere Mikroorganismen jedoch, wie z.B. E. coli und Strept. uberis können mit diesen Methoden nicht unter Kontrolle gebracht werden und gewinnen in der ganzen Welt eine immer größere Bedeutung als Mastitiserreger.

In Australien wurden erst wenige Untersuchungen durchgeführt, um die wichtigsten Erreger von klinischen Mastitiden zu ermitteln. Aufgabe vorliegender Arbeit war es deshalb, im tropischen "Atherton Tableland", einer sehr viehrefreichen Gegend im Nordosten Australiens, das Ausmaß der klinischen Mastitisfälle festzustellen und herauszufinden, welche Mikroorganismen die Verursacher klinischer Mastitiden sind.

2. SCHRIFTTUM

2.1. Verbreitung klinischer Mastitiden und wirtschaftliche Probleme in Australien

Die australische Milchindustrie ist wahrscheinlich einzigartig in der Welt, weil sie aus so vielen isolierten Gegenden besteht, einige sehr groß, andere wiederum klein. Sie liegen alle sehr weit voneinander entfernt und jedes Gebiet hat sein eigenes Klima.

Im Staat Victoria befinden sich die meisten Milchkühe. Dieser Staat, der im Süden Australiens liegt, hat einen kalten, nassen Winter und einen heißen, trockenen Sommer. Nur wenige Tiere werden in Ställen gehalten, aber die Ansteckungsgefahr aus der Umgebung ist sehr hoch während des Winters (JARRETT, 1984), vor allem der Schlamm stellt ein großes Problem dar. Die meisten Kühe kalben im Winter und zu Beginn des Frühjahrs (Juli bis Oktober). SLEE und McORIST (1985) fanden die meisten Mastitisfälle am Anfang des Frühjahrs und erklären das damit, daß sich während dieser Zeit sehr viele Kühe in einem frühen Laktationsstadium befinden. Es wird allgemein angenommen, daß Kühe in diesem Stadium anfälliger für Mastitis sind. Nach McDONALD (1984) und PEARSON und MACKIE (1979) ereignen sich 60% der Mastitiserkrankungen während der ersten sechs Wochen der Laktation.

Der heiße Sommer in den südlichen Staaten Australiens ermöglicht die Vermehrung von vielen Fliegen-

arten, die manchmal das Ausmaß einer Plage annehmen und die für die Verbreitung von einigen Mastitisarten, vor allem pyogenen Mikroorganismen verantwortlich gemacht werden (TARRY et al., 1978).

In Südaustralien und Südwestaustralien befinden sich viel weniger Betriebe mit Milchviehhaltung als in Victoria. Diese Gegenden haben ein ähnliches Klima wie Victoria, allerdings ist der Winter weniger streng und der Sommer sehr heiß. Auch hier wird saisonales Abkalben praktiziert. PULSFORD (1954) in Südaustralien sammelte als erster Daten über das allgemeine Vorkommen von Mastitis in Australien. Er untersuchte 278 Herden und nahm Zufallsproben von über 6000 Tieren und fand ein durchschnittliches Vorkommen von Infektionen mit *Strept. agalactiae* von 15,3%. Er verglich diese Zufallsproben mit Routineproben, die ins Labor geschickt worden waren. Von allen infizierten Proben wurde *Strept. agalactiae* in 62% der Zufallsproben, aber nur in 29% der Routineproben kultiviert. *Staph. aureus* wurde in 37% der Zufallsproben bzw. 68% der Routineproben gefunden.

Die Gegend von New South Wales (NSW), in der Milchviehhaltung betrieben wird, ist sehr ausgedehnt. Dieser Staat hat einen wärmeren und trockeneren Winter als die südlichen Staaten. Das Vieh wird nicht in Ställen gehalten und die Kühe kalben gleichmäßig das ganze Jahr über.

Queensland (QLD) hat zwei große Milchwirtschaftsgebiete, ein sehr extensives im Süden mit subtropischem Klima und ein kleineres im Norden, das

"Atherton Tableland", das in den Tropen liegt. Saisonales Abkalben wird in QLD nicht praktiziert. In diesem Staat wurde 1959 erneut die Mastitis-situation analysiert. Von 522 infizierten Proben, die in QLD untersucht wurden (ANONYM, 1959), wurden in 388 (66%) Staph. aureus und in 91 (17%) Strept. agalactiae gefunden. Zur damaligen Zeit wurde angenommen, daß das Vorkommen von Strept. agalactiae durch die Anwendung von Penicillin verringert worden sei (FROST, 1962). In einer Untersuchung in 44 Herden mit Zufallsproben von 1230 Kühen im Südosten von QLD fand FROST (1962), daß 29,7% der Kühe (14% der Viertel) und 86% der Betriebe mit Strept. agalactiae infiziert waren, während 46,8% der Kühe (20% der Viertel) und 100% der Betriebe mit Staph. aureus infiziert waren. Dieses Vorkommen war erstaunlich hoch, vor allem, wenn man es mit PULSFORD's (1954) Ergebnissen in Südastralien verglich, die eine Infektion mit Strept. agalactiae bei 15,3% der Kühe und mit Staph. aureus bei 37% der Kühe aufwiesen. Relativ niedrige Prozentsätze von Strept. agalactiae wurden zu jener Zeit in diagnostischen Laboren gefunden, z.B. 17% im vorhergehenden Beispiel (ANONYM, 1959) und zwar deshalb, weil die klinischen Anzeichen einer Mastitis mit Strept. agalactiae normalerweise kontrolliert werden können und deshalb keine Proben zum Labor gesendet wurden (FROST, 1962). Der hohe Anteil von 29,7% von Kühen, die mit Strept. agalactiae im Jahre 1962 infiziert waren, ließ deshalb den Schluß zu, daß keine Reduzierung der Krankheit erreicht worden war, obwohl den Bauern ein breites Spektrum von Antibiotika zur unkontrollierten Verfügung stand. FROST (1962) bemerkte auch, daß

Management und Hygiene in den untersuchten Betrieben sehr zu wünschen übrigließen und daß Vormelken in einen Vormelkbecher nur sehr selten praktiziert wurde. Auch hatten Besitzer versäumt, klinische Anzeichen an den Eutervierteln zu bemerken, von denen Proben mit stark veränderter Milch genommen wurden.

MUNCH-PETERSEN und GARDINER (1965) sammelten in acht Herden in Western Australien von jeder Kuh (insgesamt 524 Kühen) Milchproben, in denen Milch von allen vier Vierteln enthalten war und versuchten so, das Mastitis-Vorkommen in diesem Staat zu untersuchen. Es wurden zwei verschiedene Methoden angewandt und miteinander verglichen. Von jeder Probe wurde eine Leukozytenzählung durchgeführt und Milch mit mehr als 350 000 Zellen/ml wurde als nicht mehr normal bezeichnet. Diese "Abnormalität" variierte von Herde zu Herde sehr stark und zwar zwischen 50% und 82,6%. Der Anteil an Kühen, deren Milch mehr als 350 000 Zellen/ml aufwies, nahm mit steigender Herdengröße nicht zu. Alle Milchproben wurden auf Staph. sp. untersucht. Das Vorkommen einer Staph.-Infektion variierte von 31,7% der Kühe in einer Herde zu 71,7% der Kühe in einer anderen, das gesamte Vorkommen in allen Betrieben betrug 43,4%. Bei 64% aller Proben wurden Zellzahlen größer als 350 000 Zellen/ml festgestellt, während nur 24,5% aller Proben Staph.-positiv waren, d.h. eine hohe Leukozytenzahl war verbreiteter als ein hoher Staph.-Anteil. Dies bestätigte frühere Untersuchungen von WAITE und BLACKBURN (1963), daß Zellzahl und chemische Zusammensetzung der Milch bessere Indikatoren

für eine Gewebsschädigung sind als das Vorhandensein von Mastitisorganismen. TOMPKINS et al. (1946) benutzten die Zellzahl in der Milch als ein Maß für die Bakterieninvasion ins Euter und MUNCH-PETERSEN et al. bewiesen in früheren Experimenten (unveröffentlicht), daß ein Zusammenhang zwischen diesen beiden Faktoren besteht, indem bei einer normalen Milchdrüse keine Steigerung der Zellzahl, bei einem infizierten Euter jedoch ein deutlicher Anstieg derselben beobachtet werden konnte. Die gleichen Autoren kamen 1965 zu dem Ergebnis, daß Mastitis immer noch weit verbreitet war, daß die Infektion mit Staph. eine größere Bedeutung gewonnen hatte, daß die Anwendung von Antibiotika nur eine geringe Verbesserung erzielt hatte und daß ein großer Anteil der Mastitis subklinisch und deshalb weitgehend unentdeckt geblieben war.

McCLURE et al. (1966) sammelten Zufallsproben von Eutervierteln in 50 Herden im Moss Vale District in NSW, um dem Vorkommen von klinischer und subklinischer Mastitis in diesem Staat auf die Spur zu kommen und die Häufigkeit und wenn möglich die Bedeutung gewisser prädisponierender Ursachen zu bestimmen. Alle Proben (frisch gekalbte Kühe und solche im späten Laktationsstadium wurden ausgeschlossen) wurden mit dem Rapid Mastitis Test getestet, einer Modifikation des California-Mastitis-Tests (SCHALM und NOORLANDER, 1957; GRAY und SCHALM, 1960). Bei der Überprüfung waren 49,5% der Kühe und 22,3% der Viertel positiv beim Rapid Mastitis Test (abgekürzt: RMT) und zwar Grad 2 oder 3 (die Skala reicht von 0 bis 3).

Eventuell pathogene Erreger wurden von 50,2% der Viertel und 57,2% der Kühe kultiviert. Bei 25,4% dieser Kühe lag eine Infektion in mehr als einem Viertel vor. Strept. agalactiae wurde von 90,7% der Herden isoliert und Staph. aureus von 86%. Nur bei 3,4% der Kühe erkannten die Besitzer die Anzeichen einer klinischen Mastitis, aber McCCLURE et al. (1966) nahmen an, daß die Bauern die Anzeichen nicht entdeckten, da die Autoren selbst sehr viel mehr Fälle bemerkten als die Bauern. Die große Menge RMT-positiver Resultate war ein Ausdruck der hohen Anzahl subklinischer Mastitiden.

Die gleichen Autoren (1966) stellten auch fest, daß Betriebe, in denen die Melkbecher erst eine Minute oder länger nach Aufhören des Milchflusses abgenommen wurden, bei 60,1% der Kühe und 29,8% der Viertel ein positives RMT-Ergebnis anzeigten. Verglichen dazu sprachen in Betrieben mit richtiger Melktechnik nur 43,4% der Kühe und 18,1% der Viertel positiv auf den RMT an. Betriebe wurden auch entsprechend ihrer Melkhygiene in Kategorien eingeteilt und 31 Herden wurden als ungenügend klassifiziert, vor allem wegen der Benutzung von "Euterlappen", mit denen Millionen von Bakterien von einem Euter auf das andere übertragen werden und wegen der ungenügenden Desinfektion des Wassers, mit dem die Euter gewaschen wurden. In Herden mit mangelhafter Euterreinigung sprachen 52,4% der Kühe und 24,6% der Viertel positiv auf den RMT an, während in Betrieben mit ausreichender Reinigung nur 41,4% der Kühe bzw. 15,4% der Viertel positiv reagierten. Das Funktionieren der

Melkanlage wurde ebenso beurteilt und man fand, daß Herden, die mit mangelhaftem Melkzeug gemolken wurden, eine deutlich höhere Zahl von infizierten Vierteln aufwiesen, vor allem, wenn die Melkbecher längere Zeit nach Aufhören des Milchflusses an den Zitzen gelassen wurden. Die am meisten verbreiteten Melkfehler waren: eine niedrige Reservekapazität, fehlerhafte Pulsatoren und Pulsfrequenzen, Störungen im Vakuumsystem, ungenügender Lufteinlaß und defekte elektrische Leitungen.

McCLURE et al. (1966) kamen zu dem Schluß, daß ca. 90% der Herden mit *Strept. agalactiae* und *Staph. aureus* infiziert waren und daß 22% der Viertel ein positives RMT-Ergebnis anzeigten. Daraus könnte ein 10%-20% iger Produktionsverlust von diesen positiven Vierteln resultieren (GRAY und SCHALM, 1962) und deshalb war die Mastitis-Situation weitaus ernster als allgemein angenommen worden war.

In einer anderen Untersuchung in NSW sammelten JOHNSTON et al. (1966) Zufallsproben von 1598 Kühen in 30 Herden in der Gegend von Camden in NSW im Jahre 1964. Jede Probe wurde bakteriologisch untersucht und mit dem RMT die Zellzahl bestimmt. Man fand heraus, daß 70% der Herden, 14% der Kühe und 6,6% der Viertel mit *Strept. agalactiae* infiziert waren, während 97% der Herden, 23% der Kühe und 8,7% der Viertel mit *Staph. aureus* infiziert waren. Die Häufigkeit von *Staph.* und *Strept.* war viel geringer als bei FROST (1962). JOHNSTON et al. (1966) nahmen an, daß dies wegen der besseren Hygieneverhältnisse in der Camden-Gegend der Fall war.

21% der Viertel waren positiv im RMT, davon wurden in 45% potentielle pathogene Erreger isoliert. Dieses Ergebnis ist dem von McCLURE et al. (1966) ähnlich. 89% aller negativen RMT-Reaktionen ergaben in der Kultur kein positives Wachstum. JOHNSTON et al. (1966) bezeichneten den RMT als wertvolle Hilfe, diejenigen Viertel zu selektieren, die höchstwahrscheinlich kein Kulturwachstum zeigen würden. Auf der anderen Seite bedeutete ein positiver RMT nicht immer, daß auch ein Kulturwachstum stattfinden würde. Die Autoren gaben dafür verschiedene Gründe an, vor allem die vorhergehende Behandlung mit Antibiotika, die ein Bakterienwachstum verhinderte, aber die Zellzahl noch erhöhte, langsam wachsende Organismen wie z.B. *Nocardia* sp. oder eine große Anzahl von Kühen im späten Laktationsstadium, die viele Zellen ausscheiden, ohne eine Infektion zu haben. All diese Gründe werfen Zweifel am Nutzen der Zellzahlbestimmung als ein Maß der Mastitis-Verteilung auf.

In den sechs Untersuchungen, die in den sechziger und siebziger Jahren angestellt wurden, um das Vorkommen von Euterinfektionen in australischen Milchkuhherden zu bestimmen, wurden oft verschiedene Techniken benutzt, die einen Vergleich fast unmöglich machten. Dies ist vor allem der Fall, wenn man eine Untersuchung, bei der die Selektion von Vierteln auf dem RMT beruht, mit einer anderen vergleicht, in der Proben von allen Vierteln genommen wurden. Aber all diese Untersuchungen haben bewiesen, daß Euterinfektionen in australischen Milchkuhherden weitverbreitet sind, daß *Staph. aureus* der häufigste

Erreger ist und daß das Vorkommen von Strept. agalactiae, dem zweiten hauptsächlichen Erreger, von Untersuchung zu Untersuchung stark variiert.

FROST analysierte 1979 zum zweitenmal die Mastitis-situation in der gleichen Gegend um Brisbane (QLD), in der er seine erste Untersuchung im Jahre 1962 durchgeführt hatte und verglich die Ergebnisse miteinander. Von allen Vierteln von 1207 Kühen in 25 zufällig gewählten Herden wurden Milchproben genommen. Strept. agalactiae wurde bei 15% der Kühe und 7% der Viertel gefunden, verglichen mit 30% der Kühe und 14% der Viertel in 1962. Staph. aureus wurde bei 19% der Kühe und 7% der Viertel isoliert, verglichen mit 47% der Kühe und 20% der Viertel in 1962. In Herden mit einer höheren Zellzahl in der Anlieferungsmilch trat auch vermehrt Mastitis auf. FROST kam 1979 zu dem Ergebnis, daß die Haupterreger in den letzten 13 Jahren stark abgenommen hatten und führte dies auf ein verbessertes Management zurück, obwohl z.B. Zitzentauchen bei vielen Bauern immer noch zu wünschen übrig ließ. FROST (1979) meldete auch Bedenken an, die routinemäßige Zellzählung der Anlieferungsmilch als einzigen Indikator für Mastitiserkennung zu benutzen; vielmehr sollte sie helfen, dem Bauern Änderungen in seiner Herde aufzuzeigen und Problemherden für das bakteriologische Kulturwachstum zu selektieren.

Bis 1982 befaßten sich nur wenige australische Untersuchungen mit den Ursachen und dem Vorkommen von klinischer Mastitis ; normalerweise wurden alle Viertel untersucht oder Viertel mit einer erhöhten Zellzahl (oder erhöhtem RMT). DANIEL et al. (1982)

untersuchten drei Monate lang 26 Herden in der Umgebung von Brisbane und sammelten 351 Milchproben von Vierteln, bei denen die Bauern Anzeichen von klinischer Mastitis zu erkennen glaubten. Dies ergab ein Mastitis-Vorkommen von 2,6% bei den Vierteln, während es sich auf 9% bei den Kühen belief. In 6,8% der Fälle besaßen die Kühe schmerzhafte Zitzen und in 3,1% der Fälle waren die Kühe offensichtlich krank. In 38,1% der Viertel war eine Mastitis zu einem früheren Zeitpunkt aufgetreten, in 60% der Fälle zeigte sich die Krankheit in den Hintervierteln. Die Fälle verteilten sich im Laktationsstadium folgendermaßen: 10,3% in der ersten Woche, 21% im ersten Monat und 33% während der ersten beiden Monate der Laktation. Die Wahrscheinlichkeit einer Erkrankung nahm mit dem Alter zu (OLIVER et al., 1956) und zwar um 55% pro Jahr. Jüngere Kühe entwickelten Mastitis eher zu Beginn des Laktationsstadiums, während bei älteren Kühen die Krankheit gleichmäßig während der gesamten Laktation auftrat. Daraus wurde geschlossen, daß das Auftreten von klinischer Mastitis bei jüngeren Kühen - vor allem während der ersten zwei Monate der Laktation - ein Indikator für das Funktionieren der Mastitiskontrollmethoden ist (OLIVER et al., 1956).

Über die ökonomische Auswirkung der Mastitis in Australien ist nur sehr wenig Information erhältlich, aber wenn man die amerikanischen Ergebnisse des "National Mastitis Council" (PHILPOT, 1984) mit australischen Bedingungen vergleicht, kann man mit etwa \$ 250 (austral.) Verlust pro Kuh pro Jahr rechnen. Dieser Verlust gliedert sich folgendermaßen auf (MACKAY, 1984):

Reduzierte Milchproduktion	: 70%
Verwerfen der Milch nach der Behandlung:	8%
Kosten für Medikamente und Tierarzt	: 8%
Todesfälle und vorzeitiges Schlachten	: 14%

Die Zahlen bestätigen, daß der größte Verlust aus der reduzierten Milchproduktion von Tieren mit subklinischer Mastitis entsteht. Außerdem werden Milchproduktionsverluste von einem infizierten Viertel normalerweise nicht durch vermehrte Produktion der gesunden Viertel kompensiert (GRAY und SCHALM, 1962).

Das "National Mastitis Council" (PHILPOT, 1984) hat Zahlen veröffentlicht, die den Verlust pro Euter-viertel mit steigender somatischer Zellzahl (MACKAY, 1984), gemessen mit dem California-Mastitis-Test (CMT), angeben:

CMT	Zellzahl/ml	%Milchverlust/Viertel
Spuren	500 000	6
1	1 Million	19
2	2 Millionen	30
3	3 Millionen	42

MUNCH-PETERSEN und GARDENER (1965) in Western Australien stellten fest, daß 64% der Kühe in ihrer Untersuchung sehr hohe Zellzahlen hatten. Dies könnte einen Verlust zwischen 4% und 15% der gesamten Milchproduktion bedeutet haben. In dieser Untersuchung hatten die Bauern klinische Mastitis nur bei 4,5% der Kühe bemerkt. In NSW fanden McCLURE et al. (1966) bei 22,3% der Viertel hohe Zellzahlen, JOHNSTON et al. (1966) bei 21% der Viertel, wobei

die Bauern wiederum nur sehr wenige Fälle klinischer Mastitis entdeckt hatten. Der Verlust der gesamten Milchproduktion in dieser Gegend, verursacht durch subklinische Mastitis, könnte zu der Zeit zwischen 3% und 6% betragen haben. Die Zahlen beweisen, daß die Verluste - verursacht durch subklinische Mastitis - für die Bauern in Australien hoch sind, wobei die meisten sich darüber aber leider nicht im klaren sind.

Das Vorhandensein einer subklinischen Mastitis in einem Viertel hat auch Einfluß auf die Milchzusammensetzung und damit auf deren Verarbeitung (PHILPOT, 1984): Laktose, Kasein, Fett, Trockenmasse, Kalzium und Phosphor nehmen ab, während die "unerwünschten" Komponenten wie Lipase (die die Ranzigkeit erhöht), Immunglobuline, Natrium und Chlor zunehmen. Käsemenge und -qualität werden ebenso ungünstig beeinflußt. Das Ergebnis ist, daß die Hersteller von Milcherzeugnissen große Summen Geld verlieren, was durch subklinische Mastitis und Anlieferungsmilch mit erhöhtem Zellgehalt verursacht wird. Die Bauern in einigen Gegenden in Australien bekommen weniger bezahlt, wenn ihre Milch eine erhöhte Zellzahl und niedrige Qualität aufweist, vor allem niedrige Fett - und Proteingehalte. Durch ein umfangreiches Programm zur Mastitis-kontrolle könnte ein Gewinn von 300% erzielt werden (PHILPOT, 1984).

2.2. Spektrum der Infektionserreger

Um das Spektrum der Infektionserreger festzustellen und ihre Resistenz zu bestimmen, wurden in Australien drei verschiedene Arten von Untersuchungen ausgeführt.

Die erste ist die Ganzherdenuntersuchung, in der von allen Kühen in zufällig ausgewählten Herden Milchproben gewonnen und Kulturen angelegt wurden. DODD (1970) hob als erster hervor, daß Untersuchungen dieser Art, Infektionen mit langer Dauer zu große Bedeutung beimaßen, während Infektionen mit kurzer Dauer oft nicht erfaßt wurden (z.B. coliforme Erreger). Hier einige Untersuchungen dieser Art:

In PULSFORD's (1954) Untersuchung wurden bei 15,3% der Kühe Infektionen mit *Strept. agalactiae* festgestellt. FROST (1962) bewies, daß in der Umgebung von Brisbane 29,7% der Kühe mit *Strept. agalactiae* infiziert waren, 46,8% mit *Staph. aureus*, 2,1% mit *Strept. uberis*, 0,5% mit *Strept. dysgalactiae*, 0,4% mit *E. coli* und 23% mit *Micrococcus* (abgekürzt: M.). 33,2% der *Staph. aureus*-Stämme waren resistent gegenüber Penicillin. Bei *Strept. agalactiae*-Infektionen traten häufiger hohe Zellzahlen auf als bei solchen mit *Staph. aureus*; ebenso wurden bei M.-Erkrankungen oft hohe Zellzahlen festgestellt.

MUNCH-PETERSEN et al. (1965) stellten bei 43,4% der Kühe eine Infektion mit *Staph. aureus* fest und von diesen Arten waren 41,8% resistent gegenüber Penicillin. JOHNSTON et al. (1966) in NSW entdeckten eine niedrigere Infektionsrate als FROST (1962). *Strept. agalactiae* wurde von 14% aller Kühe isoliert, *Strept. uberis* von 3%, *Strept. dysgalactiae* von 2%, *Staph.sp.*

von 23%, M. von 15% und bei 51% fand kein Kulturwachstum statt. Diese niedrigen Infektionsraten deuteten vielleicht auf bessere Hygienemaßnahmen in dieser Gegend hin. 58% der Staph.-Isolate waren resistent gegenüber Penicillin. In seiner zweiten Untersuchung in der Gegend von Brisbane fand FROST (1979) 19% der Kühe mit Staph. aureus infiziert, 15% mit Strept. agalactiae, 4% mit Strept. dysgalactiae, 4% mit Strept. uberis, 40% mit M., 0,2% mit C. pyogenes und bei 37% fand kein Kulturwachstum statt. Dies bewies eine deutliche Verringerung der Erreger, die hauptsächlich für die Infektionen während der letzten 13 Jahre verantwortlich waren. 43% der Staph. aureus-Stämme waren resistent gegenüber Penicillin, eine deutlich größere Zahl als im Jahre 1961. Bei Resistenzen gegenüber Antibiotika waren kaum Veränderungen feststellbar.

Bei der zweiten Untersuchungsart wurden ins Labor eingesandte Proben von Problemkühen oder -herden routinemäßig analysiert. Diese Untersuchungen reflektierten entweder akute, schwerwiegende Krankheiten oder Fälle, die auf keine Therapie ansprachen (z.B. Staph. aureus) (FROST, 1985). Fälle, die auf Behandlung gut reagierten (z.B. Strept. agalactiae) und subklinische Mastitiden entgingen diesen Untersuchungen. Beispiele dieser Art sind:

PULSFORD berichtete, daß 1954 bei 29% der im Labor routinemäßig untersuchten Proben Strept. agalactiae und bei 68% Staph. aureus gefunden wurden, verglichen mit 62% Strept. agalactiae und 37% Staph. aureus bei seinen zufällig ausgewählten Proben. In QLD wurden 1959 bei 17% der Laborproben Strept. agalactiae und bei 66% Staph. aureus festgestellt (ANONYM, 1959).

FROST (1981) sammelte von 13 Laboren aus ganz Australien bovine Milchproben, die *Staph. aureus* enthielten, um mit ihnen Resistenzteste durchzuführen. Er kam zu dem Ergebnis, daß Resistenzen gegenüber Antibiotika, außer Penicillin und Streptomycin, ziemlich selten waren. Keine Stämme waren resistent gegenüber Methicillin, obwohl dessen intramammäre Anwendung sehr verbreitet war. Während die Resistenz gegenüber Streptomycin zwischen 1974 und 1979 ziemlich konstant blieb (6,7% in 1974 und 11,9% in 1979), nahm die Resistenz gegenüber Penicillin G über den gleichen Zeitraum hinweg ab und zwar von 35% der Isolate im Jahre 1974 auf 7,1% in 1979. FROST's (1981) Resultate zeigten auch, daß sich der Prozentsatz der *Staph. aureus*-Stämme, die Penicillinase produzierten, während der letzten zehn Jahre kaum verändert hatte, während sich allerdings der Prozentsatz, der hohe Mengen dieses Enzyms produzierte, verringert hatte. FROST (1981) führte dies darauf zurück, daß die Bauern mehr Verantwortung bei der intramammären Anwendung von Antibiotika an den Tag legten und dadurch die Resistenzgefahr vermindert wurde. Dies wurde durch ein Werk von OLSEN (1975) in Dänemark unterstützt, in dem nur 5,7% der Isolate resistent gegenüber Penicillin im Jahre 1973 waren. SLEE und McORIST (1985) untersuchten 592 routinemäßig zu Laboren in Victoria eingesandte Milchproben, um herauszufinden, wie viele Mastitiden durch pyogene Organismen verursacht werden. 31 Proben (=5,2%) enthielten zwei oder mehr der folgenden Organismen: *Corynebacterium pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum*, "Microaerophile" Kokken, *Peptostreptococcus indolicus* und *Bacteroides*-Arten. 24 dieser

Kühe hatten vor der Infektion Zitzenverletzungen und 15 Erkrankungen wurden chronisch.

Bei der dritten Untersuchungsart wurden nur Milchproben von Fällen klinischer Mastitis analysiert. DANIEL et al. (1982) sammelten 351 Viertelgemelkproben von Kühen mit klinischer Mastitis in 26 Herden in der Gegend um Brisbane im Südosten von QLD. Die prozentuale Beteiligung der Isolate war folgende: Staph. aureus 58,2%; Strept. agalactiae 19%; Strept. dysgalactiae 9,9%; Strept. uberis 5,2%; coliforme Organismen 3,9%; Pseudomonas sp. 0,9%; 45% der Isolate von Staph. aureus waren resistent gegenüber Penicillin. Bei 38,7% der Fälle fand kein Kulturwachstum statt. DANIEL et al. (1982) nahmen an, daß davon einige durch Mikroorganismen verursacht wurden, die sehr rasch wieder aus dem Euter ausgeschieden werden (z.B. Coliforme) und andere durch Erreger, die bei routinemäßigen Kulturmethode n im Labor nicht entdeckt werden (z.B. Mycoplasma sp.). Tatsächlich waren Mycoplasmen die Ursache von klinischen Mastitisinfektionen in Victoria. ALEXANDER et al. (1985) berichteten von einem Ausbruch, bei dem 11 Kühe in einer Herde Anzeichen einer klinischen Mycoplasma-Mastitis entwickelten.

Im großen und ganzen lassen all diese Untersuchungen erkennen, daß sich im Spektrum der Keime, die in Australien Mastitis verursachen, während der letzten Jahre wenig geändert hat und daß die hauptsächlichsten Krankheitserreger Strept. agalactiae und Staph. aureus sind.

2.3. Bekämpfungsmaßnahmen

Die Bekämpfungsmaßnahmen, die in Australien durchgeführt werden, variieren leicht von Staat zu Staat, aber im allgemeinen basieren die Empfehlungen auf der Untersuchung von DODD et al. (1970), der ein Kontrollprogramm formulierte, das sich auf zwei Faktoren stützt: 1) der Verhütung neuer Infektionen und 2) der Eliminierung bestehender Infektionen. Dies wird durch eine Kombination folgender Empfehlungen erreicht:

a) Die Benutzung von Präparaten zum Zitzentauchen oder auch Sprays bei allen Kühen unmittelbar nach jedem Melken und beim Trockenstellen ist ein einfacher, effektiver und wirtschaftlicher Weg, die Bakterienbesiedelung an der Zitzenhaut zu reduzieren und damit die Möglichkeit einer neuen intramammären Infektion zu verringern (PANKEY, 1984). Die am meisten benutzten Desinfektionsmittel in Australien sind Jodophore und Chlorhexidin. Sie können die Gefahr von Neuinfektionen um 50% bis 80% reduzieren (PHILPOT, 1984). Falls trockene Zitzen ein Problem sind, dann sollten Hautpflegezusätze wie Lanolin oder Glycerin zugefügt werden. Zitzentauchen ist, wenn es richtig durchgeführt wird, in Australien die am besten wirksame Kontrollmethode, da es vor allem die Haupterreger *Strept. agalactiae* und *Staph. aureus* effektiv bekämpft. Aber oft vergehen bis zu zwölf Monate, bevor der Erfolg spürbar wird, da die bestehenden Infektionen dadurch nicht beeinflusst werden (PANKEY, 1984).

b) Die richtige Verwendung von Antibiotika bei Fällen klinischer Mastitis und beim Trockenstellen können dazu beitragen, bestehende Infektionen zu verringern. Die Zitzenenden sollten gereinigt, getrocknet und mit Alkohol desinfiziert werden, bevor eine Behandlung mit einer Einmaltube durchgeführt wird. Es wird empfohlen, klinische Fälle mindestens noch einen Tag nach Erzielung der gewünschten Verbesserung zu behandeln (PHILPOT, 1984) und zwar immer nach dem abendlichen Melken (Minimum der Therapie ist drei Tage). In Problemherden und bei chronisch infizierten Kühen sollten Milchproben, die vor jeglicher Behandlung genommen werden, bakteriologisch untersucht und Resistenzteste durchgeführt werden.

Eine Behandlung beim Trockenstellen kann oft Fälle heilen, die während der Laktation auf keine Therapie angesprochen haben. Durch medikamentelles Trockenstellen wird ein Schutz vor Neuinfektionen in den ersten Wochen der Trockenperiode gewährt, außerdem entstehen keine Milchverluste durch Wartezeiten. In der Vergangenheit wurde empfohlen, alle Viertel aller Kühe medikamentell trockenzustellen. Dies war sehr teuer und kürzlich wurde entdeckt, daß in einigen Herden die dadurch entstehende niedrige Zellzahl die Immunität der Kühe herabsetzen kann (COLDITZ, 1985). Diese Art des Trockenstellens ("blanket therapy") wird jetzt nur noch für Herden empfohlen, die mehr als zwei Fälle klinischer Mastitis pro 100 Kühe pro Monat haben oder für Herden, deren Zellgehalt in der Anlieferungsmilch 400 000 Zellen/ml überschreitet. In Herden unter 400 000

Zellen/ml sollten nur Kühe, die an einer klinischen Mastitis erkrankt waren oder solche, deren Zellzahl größer als 250 000 Zellen/ml während ihrer Laktation war, auf allen Vierteln medikamentell trockengestellt werden (FROST, 1985).

c) Tiere, die mehrmals an klinischer Mastitis erkrankt waren, sollten nicht in der Herde behalten werden, da die Wahrscheinlichkeit, daß diese Kühe vollkommen geheilt werden, vor allem bei einer Staph. aureus-Infektion, gering ist und solche Tiere eine Quelle der Ansteckung für andere bedeuten können.

d) Die Melkanlage muß einmal jährlich in technischer, funktioneller und hygienischer Hinsicht überprüft werden. Nicht richtig funktionierende Melkanlagen bergen die Gefahr einer Neuinfektion durch Zitzenkontamination und Zitzenläsionen oder aber dadurch, daß infektiöses Material durch den Zitzenkanal hochgeschoben wird (GRIFFIN et al., 1981).

e) Durch den monatlichen Zellgehalt in der Anlieferungsmilch können die Fortschritte eines Kontrollprogrammes überprüft werden. Diesen Service erhalten jetzt alle Bauern in Australien und die meisten können auch die monatlichen Zellzahlen jeder einzelnen Kuh erfahren. Bakteriologische Untersuchungen von Kühen mit hohen Zellzahlen verhindern einen dramatischen Anstieg des Zellgehaltes in einer Herde.

f) Beim Melken müssen bestimmte Hygienemaßnahmen konsequent eingehalten werden. Das Abmelken der

ersten keimreichen Milchstrahlen in einen Vormelkbecher dient zur Kontrolle der Milchbeschaffenheit und damit der Eutergesundheit. Stark verschmutzte Euter werden nur mit fließendem Wasser gereinigt und mit Einmal-Eutertüchern getrocknet. Vor Beginn des Melkens und zwischen den einzelnen Kühen ist Händewaschen des Melkers dringend notwendig. Nach dem Einschießen der Milch ist das Melkzeug unverzüglich anzusetzen, ebenso muß am Ende des Melkvorganges "Blindmelken" vermieden werden. In Herden mit einem Mastitisproblem können die Melkbecher zwischen den einzelnen Kühen mit fließendem Wasser ausgespült werden. Es ist ratsam, Kühe mit Eutergesundheitsstörungen und behandelte Kühe am Schluß zu melken.

In Australien wurde nach neuen Möglichkeiten gesucht, um die erregerspezifische Abwehr (Parasitizität) der Kühe gegenüber Mastitis durch systemische und lokale Immunisierung zu erhöhen (COLDITZ, 1985). Ebenso wird versucht, nicht-spezifische Abwehrmechanismen durch die Anwendung einer intramammären Spirale und durch eine beschleunigte Involution zu stärken (FROST, 1985).

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Gewinnung der Milchproben

Die Probenentnahme erfolgte von November 1984 bis Juni 1985. Die Milchproben wurden von 27 zufällig ausgewählten Herden im tropischen "Atherton Tableland" im Nordosten Australiens gesammelt. Die Proben wurden von laktierenden Holstein-Friesian Kühen mit klinisch apparter Mastitis entnommen, bevor eine Behandlung durchgeführt wurde.

Bei der Entnahme wurde darauf geachtet, daß alle Tätigkeiten am Euter und in der Umgebung der Kuh so durchgeführt wurden, daß kein Staub aufgewirbelt wurde. Die Zitzenkuppe und Strichkanalmündung des erkrankten Viertels wurde mit einem Wattebausch, der mit 70% igem Alkohol getränkt worden war, mit schraubenden Bewegungen gereinigt und desinfiziert. Wenn eine einmalige Behandlung nicht ausreichte, wurde der Vorgang noch einmal wiederholt. Es wurde versucht, die Kontamination so gering wie möglich zu halten, indem das sterile MacCartney Fläschchen, in dem die Milch gesammelt wurde, bei der Entnahme fast horizontal gehalten wurde. Es wurde darauf geachtet, daß das Zitzenende den Behälter nicht berührte. Nach Entnahme von 5-10 ml Milch wurde das MacCartey Fläschchen mit einem Schraubverschluß undurchlässig verschlossen und deklariert.

3.2. Transport und Aufbewahrung der Milchproben

Die Milchproben wurden in einer Kühltasche, die Eis enthielt, transportiert. Anschließend wurden die

Proben sofort in einer Tiefkühltruhe bei -20°C eingefroren. Die Proben waren von einem Zeitraum von zwei Wochen bis sechs Monaten eingefroren. Zur Laborauswertung wurden die Milchproben in gefrorenem Zustand wiederum in einer Kühltasche mit Eis per Flugzeug zur 2000 km entfernten Universitätsklinik in Brisbane transportiert.

Es ist zwar bekannt, daß die Möglichkeit besteht, daß bei -20°C empfindliche d.h. labile Erreger absterben können (STORPER et al., 1982), jedoch war es wegen der immensen Entfernung in Australien nicht möglich, die Milchproben - ohne sie einzufrieren - so lange frisch zu halten, bis sie in einem Labor ausgewertet werden konnten. McDONALD (1984) und SHOTTS und LEARD (1984) empfehlen, Milchproben einzufrieren, falls ein schnelles Auswerten im Labor bis zu acht Stunden nach der Gewinnung nicht möglich ist. Obwohl z.B. *Pseudomonas* und *Klebsiella* labile Erreger sind, wurden bei der Auswertung im Labor in über 9% der Isolate (s. Punkt 4.2.) diese beiden Bakterien identifiziert. Bei nur 18,3% der Fälle fand kein Kulturwachstum statt, was auch darauf schließen läßt, daß nur wenige Erreger durch den Einfrierungsvorgang abgetötet wurden.

3.3. Weitere Informationen über die betreffenden Herden

Bei der Milchprobenentnahme wurden folgende Informationen gesammelt: Datum der Entnahme, Alter der Kuh, ihr letztes Abkalbedatum, ob sie schmerzhafte Zitzen hatte, ob sie zu einem früheren Zeitpunkt

schon einmal Mastitis im betreffenden Viertel hatte und von welchem Viertel die Milchproben entnommen wurden. Um das Management in jedem Betrieb beurteilen zu können, wurde jeder Bauer während des Melkvorganges besucht. Dabei wurden die Melkarbeit, die Melkhygiene (z.B. Euterreinigung und Zitzen-desinfektion), die Praxis des Vormelkens in einen Vormelkbecher, das Zitzentauchen nach dem Melkvorgang und die Reinigung und Desinfektion der Melkanlage beurteilt und das Datum der letzten Überprüfung der Melkanlage festgestellt. Jeder Bauer wurde um Auskunft gebeten, ob er eine antibiotische Versorgung des Euters beim Trockenstellen durchführt. Da die meisten Betriebe, bei denen die Milchproben entnommen wurden, dem "Herd Health Program" angeschlossen waren, konnten folgende Daten von diesen Betrieben vom Computer abgerufen werden: Anzahl der laktierenden Kühe, die Altersverteilung dieser Kühe, Anzahl der Kalbungen pro Monat, Zellgehalt der Anlieferungsmilch während der letzten zwölf Monate, durchschnittliche Milchproduktion pro Laktation in Liter und durchschnittliche Anzahl der Mastitiserkrankungen pro 100 Kühe im vorhergehenden Jahr.

3.4. Laboruntersuchung der Milchproben

3.4.1. Bakteriologische Methoden

Im Labor wurden die Milchproben bei Zimmertemperatur aufgetaut und heftig geschüttelt, um eine gute Vermischung zu erzielen. Danach wurde eine Öse jeder Probe auf Schafblutagar (Blutagar-Basis (Difco) mit 10% igem sterilen, zitrierten Schafblut) und MacConkey-agar (Oxoid) ausgestrichen. Die Petri-Schalen wurden

bei 37°C im Brutschrank inkubiert und nach 24 Std. und nach 48 Std. abgelesen. In Fällen, in denen nach 48 Std. Inkubation noch kein Kulturwachstum stattfand, wurde 1,0 ml Milch zu 3,0 ml Nährbrühe (Difco) verimpft und bei 37°C inkubiert. Nach 24 Std. Inkubation wurde eine Öse der Brühe auf Schafblutagar (s.o.) und MacConkey (s.o.) ausgestrichen, bei 37°C inkubiert und nach 24 Std. abgelesen. Das Wachstum der Kolonien wurde als leicht (1-20 Kolonien), mittel (20-50 Kolonien) und schwer (über 50 Kolonien) bewertet. Auf Blutagar wurde zwischen α -, β - und γ -Hämolysen unterschieden. Die Bakterien wurden anhand von Färbungen nach GRAM in Kokken und Stäbchen eingeteilt. Grampositive Kokken wurden mit Hilfe des Katalasetests weiter spezifiziert. Bei Katalasebildnern wurde der Koagulasetest durchgeführt. Koagulase-negative Stämme wurden als M.-Arten, koagulase-positive Stämme als Staph. aureus bezeichnet. Arten, die keine Katalase bildeten, wurden als Strept. identifiziert und anhand des CAMP-Phänomens (CHRISTIE, ATKIN und MUNCH-PETERSEN, 1944) und des HAA-Tests (SLAVIN, 1948) weiter differenziert. Die Ergebnisse wurden anhand des verschiedenen Verhaltens der Strept., bestimmte Zuckerarten (Laktose, Trehalose, Sorbit, Inulin und Raffinose) zu spalten, überprüft. Enterobacteriaceae wurden mit Hilfe der Enterotube^R (Roche), Pseudomonas sp. anhand der Oxi/Ferm Tube^R (Roche) differenziert. Mikroorganismen wie Bacillus sp. und Corynebacterium sp. wurden aufgrund ihrer Koloniemorphologie (Größe, Form, Oberflächenbeschaffenheit, Pigmentierung, Geruch) differenziert. Zur Überprüfung der Zellmorphologie wurden von

den Kulturen Ausstriche angefertigt, die nach GRAM gefärbt wurden. Unter dem Mikroskop wurde das Verhalten nach GRAM beurteilt und die Lage der Keime zueinander überprüft. Die Hefeart *Torulopsis* wurde mit Hilfe des API-Systems (Vertrieb Biologische Arbeitsgemeinschaft, Lich.) identifiziert.

Milchproben, bei denen überhaupt kein Wachstum erfolgte, wurden auf das eventuelle Vorhandensein von Mycoplasmen überprüft. Dazu wurde folgender Agar (SATHYANARAYANA MOORTHY, 1977) zubereitet: 35 ml PPLO-Brühe (Difco), 10 ml nicht inaktiviertes Pferdeserum (CSL, Melbourne), 5 ml Hefeextrakt (Yeast Company of Australia/Toowoomba), 0,5 ml Penicillin (Glaxo) und 0,1 ml 50% ige Glukoselösung (50 gr. Glukose in 100 ml sterilem Wasser) wurden unter sterilen Bedingungen bei 45°C vermischt. Je 10 ml dieser Mischung wurden in sterile Petrischalen mit 55 mm Durchmesser gegossen und im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt, bis sich der Agar verfestigt hatte. Zwei Ösen der Milchproben wurden auf dem Mycoplasma-Agar verimpft und die Platten bei 37°C in einer feuchten Atmosphäre mit 5% CO₂ inkubiert. Die Platten wurden nach 48 Std. und nach 72 Std. beurteilt.

3.4.2. Virologische Methoden

Milchproben, bei denen kein Kulturwachstum stattfand, wurden in Reagenzgläser umgefüllt, 20 Min. bei 15 000 Umdrehungen zentrifugiert und anschließend filtriert (Microflow 25). Der Überstand, der mit einer Pipette abgenommen wurde, diente als Ausgangsmaterial für die Virusisolierung.

Als Medium wurde Medium 199 (Commonwealth Serum Laboratories, Australia) verwendet, gepuffert mit 0,01 M tricine (N-tris(hydroxymethyl) methyl glycine (Calbiochem) und RPM1 1640 (Commonwealth Serum Laboratories, Austr.)). Als Nährmedium wurde Medium 199 (T 199), dem 15% fetales bovines Serum (Medos, Brisbane) zugesetzt wurde, benutzt, als Erhaltungsmedium T 199 mit 5% fetalem bovinem Serum (FBS).

Für die Herstellung der Zellkulturen wurde bovines Euterepithel verwendet. Die Zellkulturen wurden nach von MAYR et al. (1974) beschriebenen Standardmethoden gezüchtet. Kleine Eutergewebestückchen von geschlachteten Tieren wurden mit einer Phosphatlösung (pH 7,2) zweimal gewaschen. Ca. 10 gr Gewebe wurde in 100 ml 0,2% Trypsin (Difco) suspendiert, in eine Glasflasche gefüllt und mit einem magnetischen Rührgerät bei 37°C 30 Min. lang gerührt. Die Zellsuspension wurde in 30 ml-Flaschen gesammelt und 3 Min. lang bei 600 g zentrifugiert. Die Zellernte wurde anschließend im Nährmedium (s.o.) suspendiert und die Glasflaschen in horizontaler Position bei 37°C inkubiert. Nach einigen Tagen wurde das Nährmedium erneuert.

Für den Virusnachweis wurden die Einschichtzellkulturen auf Mikrotiterplatten mit je 10 Mikrolitern des Überstandes der Milchproben beimpft (vier Vertiefungen je Probe) und mit 50 Mikrolitern Erhaltungsmedium (s.o.) im CO₂-Inkubator bei 37°C bebrütet. Die Kulturen wurden regelmäßig auf cytopathische Veränderungen untersucht. Nach

zwei Tagen wurde das Erhaltungsmedium erneuert. Als Kontrolle liefen entsprechende nicht-beimpfte, ansonsten jedoch völlig gleich behandelte Kulturen auf jeder Mikrotiterplatte mit. Nach neun Tagen wurden die Platten in flüssigem Stickstoff (-196°C) 10 Min. lang eingefroren, bei 37°C wiederaufgetaut und die Virusernten gewonnen.

3.4.3. Countercurrent-Immunelektrophorese (CIE)

Biophysikalische Grundlage beim CIE ist die Präzipitation von Antigen und Antikörper in einem Medium, das in einem elektrischen Feld zwischen Anode und Kathode liegt.

Zur Gewinnung des Antigens wurden die Milchproben aufgetaut, 3 ml in ein Reagenzglas pipettiert und 0,3 ml Rennin (zur Präzipitation des Kaseins) dazugegeben. Die Gläser wurden 6 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen und dann bei 4000 Umdrehungen/Min. für 20 Min. lang zentrifugiert. Der Überstand wurde in 5 ml-Plastikfläschchen filtriert.

Die Antisera wurden von H. Kazal im Labor in Brisbane/Australien zur Verfügung gestellt. Es wurden folgende Antisera verwendet:

Staph. aureus 1; 2; 2-8; 18; 21; F++;
Smith;

E. coli B17; B671; J5;

Strept. uberis

Strept. dysgalactiae

Strept. agalactiae 090; 5s:

Die Gewinnung dieser Antisera erfolgte durch künstliche Infizierung von Kühen.

Die Präzipitation wurde nach der von EDWARDS und LARSON (1973) beschriebenen Methode mit der CIE durchgeführt (REMMERS, 1975; RÖTTGER, 1977). Dazu wurden auf fettfreie Glasplatten (9 cm x 10 cm) je 17 ml 1% Agarose-M-Gel-Agar (LKB, Bromma/Sweden) aufgetragen. Der im heißen Wasserbad verflüssigte Agar erstarrte wenige Minuten, nachdem er auf die Platten gegossen worden war. In einer feuchten Kammer können die so präparierten Platten einige Tage aufbewahrt werden. In die erstarrte Agarschicht wurden nun zwei parallel verlaufende Lochreihen mit einem Lochdurchmesser von 2,5 mm gestantzt. In die Vertiefung der Kathodenseite wurden je 10 Mikroliter des aus den Milchproben gewonnenen Antigens, in die der Anodenseite je 10 Mikroliter Antiserum mit einer Pipette eingefüllt. Die CIE wird in einer Elektrophoresekammer durchgeführt. Die Glasplatten wurden auf einen Träger gelegt, der sich zwischen Anoden- und Kathodenseite befindet. In den Raum zwischen Träger und Pole wurden auf jeder Seite je 120 ml Tris-barbiturate-Puffer mit pH=8,6 (LKB, Bromma/Sweden) eingefüllt. Der Kontakt zwischen Platte und Pufferlösung wurde mittels einem feuchten Filterpapierstreifen hergestellt, der ca. 1 cm auf der Platte auflag und mit der anderen Seite in die Pufferlösung hing. Die Elektrophoresekammer wurde mit einer durchsichtigen Plexiglashaube abgedeckt, um eventuelle Beeinflussungen von außen zu vermeiden. Auf den Deckel wurden Eisbeutel gelegt, um eine Erwärmung zu vermeiden. Jetzt wurde die Kammer eingeschaltet; die Spannung zwischen Anode und Kathode betrug 300 Volt, durch den Agar floß ein Strom von 15 mA. Nach 60 Min. Laufzeit

war die CIE beendet und die Ergebnisse konnten abgelesen werden. Dazu wurde die Platte über eine Lichtquelle gelegt, um die feinen, weißen Präzipitationslinien besser erkennen zu können. Als Kontrolle lief auf jeder Platte eine entsprechende antigenhaltige Probe mit, die aus einer reinen Kultur hergestellt wurde.

4. ERGEBNISSE

4.1. Allgemeiner Überblick

Insgesamt wurden in 27 Herden 104 Viertelgemelkproben von Kühen mit klinischer Mastitis über einen sechsmonatigen Zeitraum hinweg gesammelt. Die durchschnittliche Herdengröße betrug 109 Kühe (die Anzahl bewegte sich zwischen 52 und 240 Kühen). Die durchschnittliche Milchproduktion pro Kuh betrug 3586 Liter (Mindestherdendurchschnitt 2424 l - Maximalherdendurchschnitt 6007 l) (s.Tab.1). Die Häufigkeit, mit der Euterviertel erkrankt waren, betrug 0,95%; die Häufigkeit, mit der Kühe betroffen wurden 3,7%. Die Auswertung der Informationen, die zum Zeitpunkt der Milchprobenentnahme gesammelt wurden, ergab folgendes Resultat:

Fälle mit schmerzhaften Zitzen: 8,6%

Fälle mit vorhergehender Mastitis im gleichen Viertel: 39,4%

Prozentuale Beteiligung der Erkrankung in den beiden Hintervierteln: 62,8%

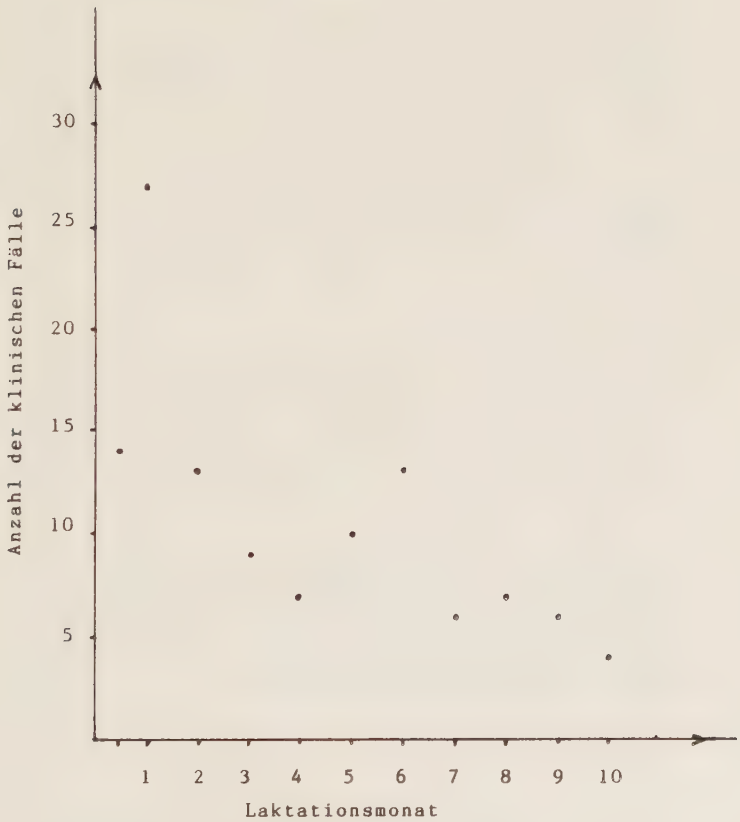
In keinem der Fälle wies eine Kuh mit klinischer Mastitis irgendwelche Symptome einer systemischen Erkrankung auf.

Die Verteilung von Fällen entsprechend dem Laktationsstadium wird in Abb. 1 dargestellt. 26,5% ereignen sich während des ersten Laktationsmonates und 39,2% während der ersten beiden Laktationsmonate. Eine weitere Aufschlüsselung der Verteilung im ersten Laktationsmonat (Abb. 1) zeigt, daß die Hälfte der Fälle im ersten Monat in der ersten Woche vorkamen, das sind 13,7% aller vorkommenden Fälle.

Tabelle 1: Informationen über jeden einzelnen Betrieb

Betrieb	Anzahl d.Kühe	Durchschnitts- produktion pro Laktation in l	Zellgehalt d. Anliefg.milch in 1984	Durchsch.Zahl v.Mastitisfällen/ 100 Kühen in 1984
A	84	4244	153 545	4,01
B	110	3572	339 500	0,7
C	135	4625	169 364	1,74
D	132	2614	256 667	0,08
E	74	5768	253 000	8,47
F	75	5257	203 791	0,79
G	72	6007	185 333	5,88
H	75	3516	253 273	0,81
I	70	2904	250 000	3,0
J	240	3258	404 000	2,13
K	205	3556	117 182	2,5
L	109	2679	232 909	1,44
M	108	3744	200 667	0,26
N	102	3468	199 000	2,79
O	87	3000	312 000	0,12
P	134	3946	275 636	1,79
Q	104	4317	243 500	0,1
R	158	2424	321 091	1,18
S	144	4537	356 667	2,38
T	52	3301	173 637	0,26
U	79	4094	358 909	1,32
V	95	4096	509 857	0,51
W	120	5660	166 500	0,45
X	65	4519	239 800	3,0
Y	104	3491	325 818	1,09

Abb. 1 : Verteilung von Mastitisfällen
im Laktationsstadium



Die Verteilung von Fällen entsprechend dem Laktationsstadium wird nur sehr wenig durch eine ungleiche Verteilung von Laktationsstadien beeinflusst; da die Milchwirtschaft in North-QLD jeden Monat die annähernd gleiche Produktionsmenge an Milch benötigt, variiert die Regelmäßigkeit, mit der Kühe das ganze Jahr hindurch kalben, nur sehr wenig (Abb. 2).

Die Altersverteilung der Kühe in 25 Herden (bei zwei Betrieben war keine Auskunft erhältlich) wurde bestimmt (Abb. 3) und die Anzahl von klinischen Fällen - ausgedrückt als Prozentsatz der Gesamtanzahl von Vierteln in jeder Altersgruppe - in Abb. 4 eingezeichnet. Aus Abb. 4 ersieht man, daß mit zunehmendem Alter der Kuh die Wahrscheinlichkeit einer Mastitiserkrankung höher wird und zwar um 0,5% pro Jahr.

Um festzustellen, ob ein Zusammenhang zwischen dem Alter der Kuh und dem Laktationsstadium bezüglich des Auftretens einer klinischen Mastitis besteht, wurden die Informationen, wie in Tab. 2 ersichtlich, in verschiedene Gruppen aufgeschlüsselt.

Die Ergebnisse in Tab. 2 scheinen darauf hinzuweisen, daß bei jüngeren Kühen Mastitis gehäuft in den ersten Laktationsmonaten auftritt, während bei älteren Tieren Mastitis gleichmäßig über die gesamte Laktationsdauer verteilt ist.

Abb. 2: Anzahl von Kalbungen pro Monat im Jahre 1984/85

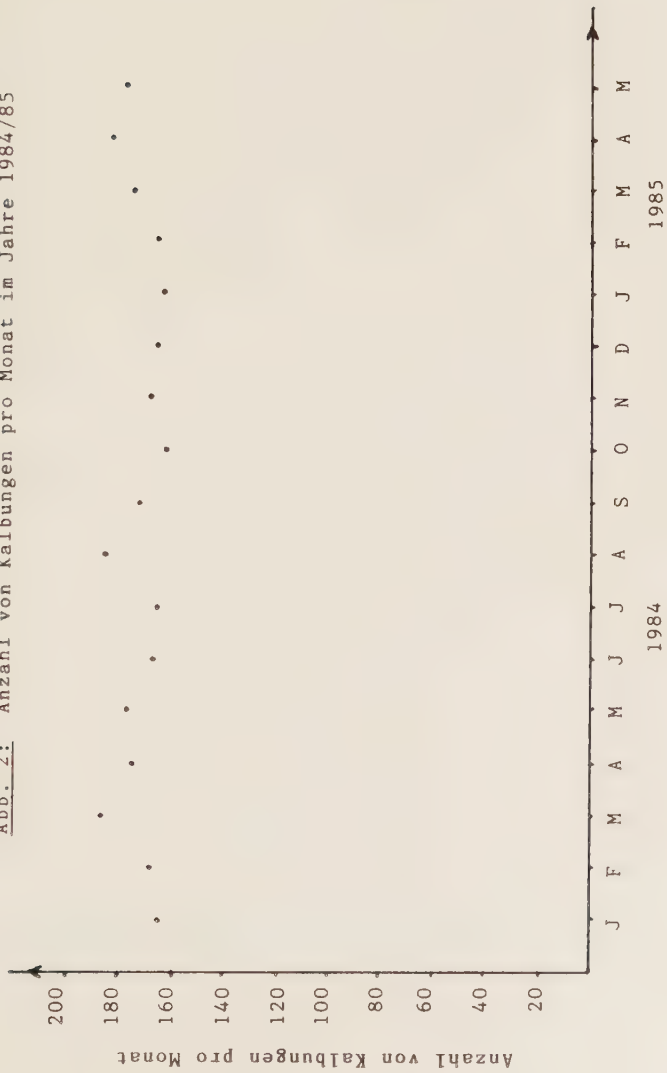


Abb. 3: Altersverteilung der Kühe
in 25 Herden

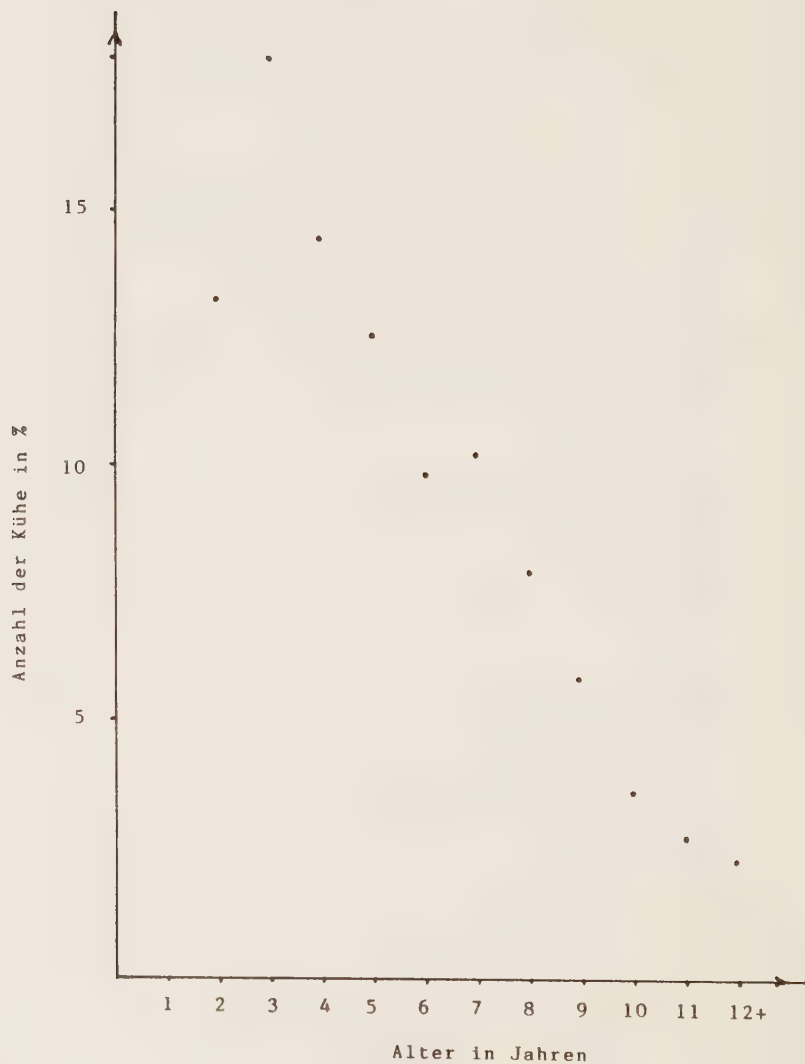


Abb. 4: Anzahl der klinischen Fälle
in jeder Altersgruppe

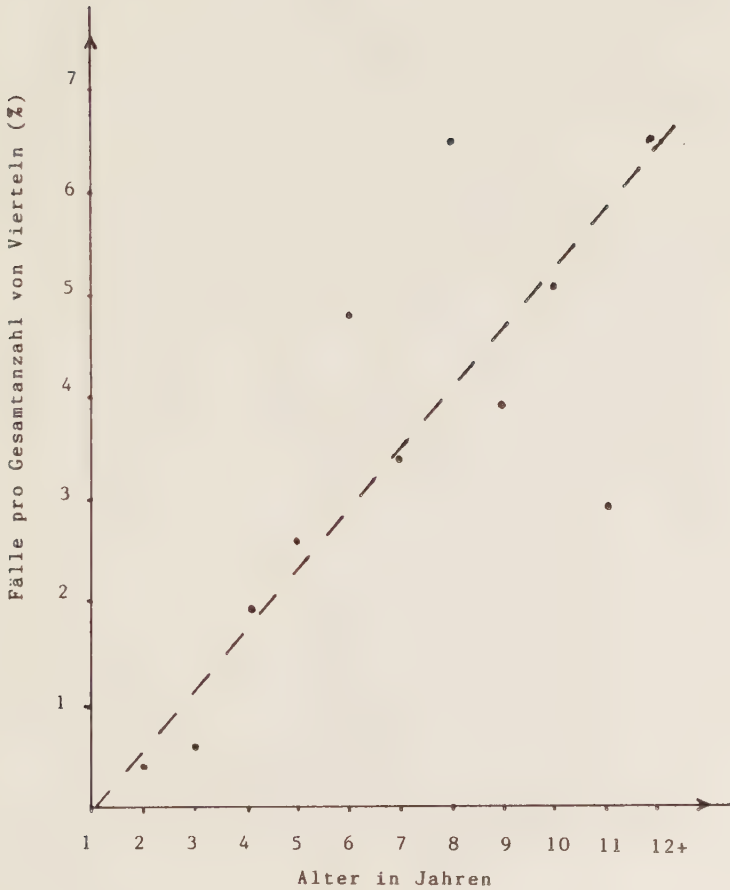


Tabelle 2: Laktationsstadium, in dem sich die klinische Mastitis ereignete

Laktationsstadium	Altersgruppe		
	2 - 5 J	6 - 9 J	10 J +
1. und 2. Monat	15	17	6
3. und 4. Monat	4	7	5
5. und 6. Monat	4	13	7
7. und 8. Monat	6	5	3
9. und 10. Monat	3	4	2

Der durchschnittliche Zellgehalt der Anlieferungsmilch dieser Betriebe betrug 266 270 Zellen/ml während der letzten 12 Monate (die niedrigste Zellzahl war 117 182 Zellen/ml, die höchste 509 857 Zellen/ml) (s.Tab. 1). Ein Zusammenhang zwischen dem Zellgehalt der Anlieferungsmilch und der Anzahl an Fällen klinischer Mastitis konnte nicht nachgewiesen werden. Mit steigender Herdengröße nahm weder die Zahl klinischer Mastitis-Erkrankungen pro 100 Kühe noch der Zellgehalt der Anlieferungsmilch zu.

In nur acht der Betriebe, in denen Milchproben gesammelt wurden, ließen die Bauern die individuellen Zellzahlen aller Kühe jeden Monat im Rahmen der Milchleistungsprüfung feststellen. In Tab. 3 werden in diesen acht Herden die Durchschnittszellgehalte der Anlieferungsmilch der letzten zwölf Monate mit den durchschnittlichen Zellzahlen verglichen, die Kühe mit klinischer Mastitis im Monat vor ihrer Erkrankung aufwiesen. Diese Kühe, die klinische Mastitis entwickelten, wiesen Zellzahlen auf, die zwischen 100% und 400% höher lagen als der Durchschnittszellgehalt der Betriebe - mit Ausnahme von Betrieb K.

In Betrieb K lag die Zellzahl der Kühe mit klinischer Mastitis (im Monat vor ihrer Erkrankung) um die Hälfte niedriger als der Durchschnittszellgehalt der Herde. Um einen weiteren Einblick in diesen Betrieb zu gewinnen, wurden Informationen über die Zellgehalte der Anlieferungsmilch und der individuellen Kühe mit klinischer Mastitis während

Tabelle 3: Vergleich zwischen Durchschnittszellgehalt der Anlieferungsmilch während der letzten zwölf Monate und durchschnittlichen Zellzahlen von Kühen mit klinischer Mastitis im Monat vor ihrer Erkrankung

Betrieb	Ø Herdenzellzahl während der letzten 12 Mon. x 1000 pro ml	Ø Zellzahl der Kühe mit Mastitis im Monat vor der Erkrankung x 1000/ml	Σ von der Ø Herdenzellzahl
B	339	409	121
C	169	542	320
E	253	999	394
J	404	545	134
N	199	428	215
X	239	517	216
K	117	60	51

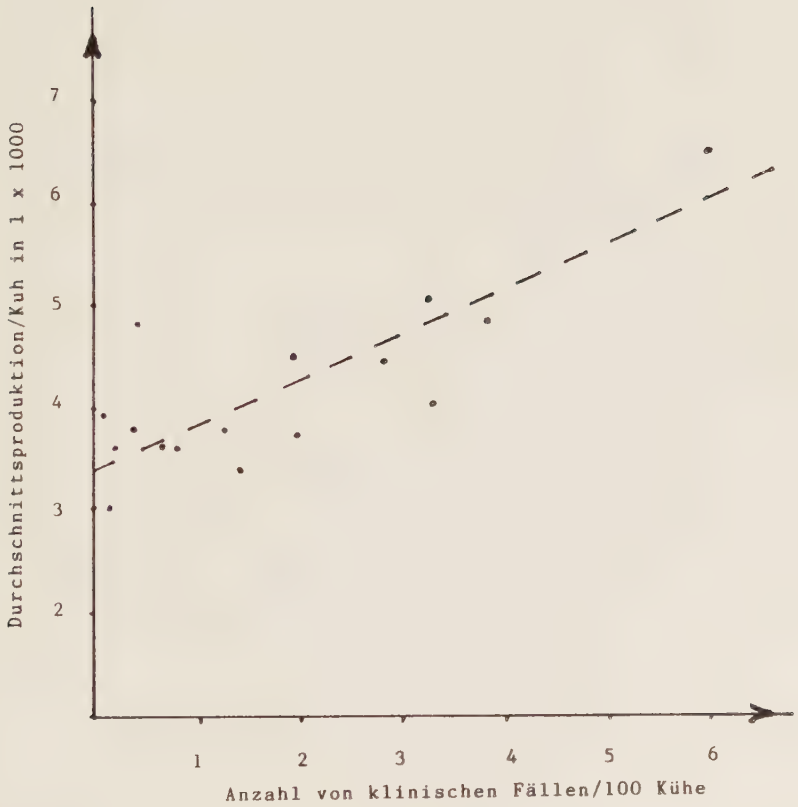
der letzten drei Jahre gesammelt und in Tab. 4 zusammengestellt. In jedem dieser Jahre lag der Durchschnittszellgehalt der an klinischer Mastitis erkrankten Tiere (zwei Monate vor der Erkrankung) um die Hälfte niedriger als der Durchschnittszellgehalt der Herde.

In Abb. 5 wurde das Verhältnis zwischen Milchproduktion und Anzahl von Fällen klinischer Mastitis dargestellt. Aus der Abbildung ist zu entnehmen, daß Betriebe mit höherer Milchproduktion eine deutliche Tendenz zu einer steigenden Anzahl von Fällen klinischer Mastitis zeigen.

Tabelle 4: Vergleich der Zellzahlen in Betrieb K

Jahr	Zellzahl der Anlieferungsmilch während der letzten 12 Monate	Zellzahl der Kühe mit klinischer Mastitis 2 Mon. vor der Erkrankung
1983	192 000	106 000
1984	152 000	73 000
1985	110 000	50 000

Abb. 5: Verhältnis zwischen Milchproduktion und Anzahl klinischer Fälle



4.2. Bakteriologische Resultate

Die Anzahl der verschiedenen bakteriologischen Erreger, die in den Milchproben gefunden wurden, sind in Tab. 5 aufgeführt.

In 18,3% der Fälle war das Kulturwachstum negativ. Von diesen Milchproben wurden spezielle Kulturen zum Mycoplasmen-Nachweis angelegt, die jedoch alle negativ waren.

4.3. Virologische Resultate

Die 19 Milchproben, bei denen bei der bakteriellen Untersuchung kein Kulturwachstum stattfand, wurden auch auf Viren untersucht. Das Ergebnis war jedoch in allen Fällen negativ.

4.4. Resultate der Countercurrent- Immunoelktrophorese (CIE)

Zehn Proben waren serologisch positiv im CIE auf Staph. aureus, sieben davon auf Staph. aureus-Stamm 2, zwei auf Stamm 2-8 und eine auf Stamm 18. Dies stimmte mit dem Ergebnis des vorhergehenden Kulturtests überein. Neunzehn andere Proben, bei denen bei der bakteriologischen Untersuchung Staph. aureus gefunden wurden, waren serologisch negativ; elf dieser neunzehn Proben ergaben im CIE ein positives Resultat auf Strept. uberis.

Tabelle 5: Isolate von Bakterien von 104 Fällen
von klinischer Mastitis

Isolierter Erreger	Anzahl	% der Fälle	% der Isolate
Staph aureus	32	30,8	33
Strept. uberis	13	12,5	13,4
Strept. dysgalactiae	14	13,5	14,4
Bacillus	15	14,4	15,5
Pseudomonas	7	6,7	7,2
Corynebacterium	3	2,9	3,1
Serratia	3	2,9	3,1
Klebsiella	2	1,9	2,1
E. coli	1	0,9	1
Enterobacter	3	2,9	3,1
Micrococcus	3	2,9	3,1
Torulopsis candida	1	0,9	1
Kein Wachstum	19	18,3	

Gesamtanzahl ist größer als 104, da in 10 Fällen
Mischinfektionen.

Alle bei der bakteriologischen Untersuchung gefundenen *E. coli* reagierten serologisch stets negativ, nicht nur auf *E. coli*, sondern auch auf andere Organismen.

Alle Proben waren negativ auf *Strept. agalactiae* im CIE.

Fünf Proben sprachen serologisch und bakteriologisch positiv auf *Strept. dysgalactiae* an. Sechs weitere Proben, die bakteriologisch positiv auf *Strept. dysgalactiae* reagierten, konnten serologisch nicht bestätigt werden, vier davon waren serologisch positiv auf *Strept. uberis*.

Von 53 serologisch auf *Strept. uberis* positiven Proben, entsprachen nur 12 dem bakteriologischen Ergebnis.

Alle Proben ohne Kulturwachstum wurden als CIE-negativ identifiziert.

5. DISKUSSION

3,7% aller Kühe in den Herden, in denen die vorliegende Untersuchung durchgeführt wurde, erkrankten an klinischer Mastitis. Dies ist viel niedriger als bei PEARSON et al. (1979) berichtet. Ebenso unterscheiden sich die ermittelten Prozentsätze der verschiedenen Krankheitserreger erheblich von den von DANIEL et al. (1982) gefundenen in der Gegend um Brisbane - ausgenommen *Staph. aureus*, der hier bei 31% der Fälle und bei DANIEL (1982) bei 38% der Fälle auftrat. PEARSON et al. (1979) fanden bei ihrer 3,5 jährigen Untersuchung in Nordirland in 29% der Fälle von klinischer Mastitis *Staph. aureus* vor. Dieser Organismus bleibt weiterhin der bedeutsamste Mastitis-Erreger in Australien.

Strept.-Arten traten in 26% der Fälle auf, was in Übereinstimmung mit DANIEL et al. (1982) steht. Strept. agalactiae wurde in dieser Untersuchung überhaupt nicht gefunden, was verschiedene Vermutungen zuläßt. Die erste ist die totale Isolation des "Atherton Tablelands" von anderen Gegenden Australiens, in denen Milchwirtschaft betrieben wird. Nur sehr wenige erwachsene Tiere werden neu in die Gegend gebracht, so daß Strept. agalactiae vielleicht niemals in großer Anzahl eingeschleppt wurde. Dies wird durch die Tatsache unterstützt, daß Strept. agalactiae nur sehr selten von routinemäßig untersuchten Milchproben isoliert wurde. Ebenso ist es mit einer guten Mastitiskontrolle möglich, diese Keim in einer Herde auszumerzen (McDONALD, 1984). Strept. dysgalactiae, der ebenso durch gutes Management kontrolliert

werden könnte, trat bei 14% der Fälle auf, verglichen mit 7% bei DANIEL et al. (1982). Dies könnte bedeuten, daß in einigen Herden die Kontrollmethoden, vor allem Zitzentauchen, verbessert werden sollten. Der bedeutendste Unterschied zwischen dieser Untersuchung und früheren Veröffentlichungen ist der, daß 52,6% der Isolate (37%, wenn man *Bacillus* außer acht läßt) durch andere Organismen als *Staph. aureus*, *Strept. agalactiae* und *Strept. dysgalactiae* verursacht wurden, verglichen mit 13% bei DANIEL et al. (1982) und 3,2% bei WANASINGHE und FROST (1979). Dies würde gewissermaßen darauf hindeuten, daß - wie in anderen Ländern - diese anderen Organismen, vor allem *Strept. uberis*, Coliforme und *Pseudomonas* eine größere Bedeutung als Mastitis-Erreger in Australien gewinnen. In Großbritannien z.B. fand MARR (1978) Herden, in denen *Strept. uberis* und Coliforme die hauptsächlichen Verursacher von klinischen Mastitiden wurden, obwohl seit mindestens vier Jahren Zitzentauchen praktiziert und Kühe mit Langzeitantibiotika trockengestellt wurden. Coliforme traten bei bis zu 80% der Isolate von einigen Herden in den USA (JASPER, 1975) auf. JACKSON (1980) hat festgestellt, daß moderne Kontrollmethoden relativ unwirksam sind, um diesen Infektionen vorzubeugen.

Bei 18,3% der Fälle war das Kulturwachstum negativ, verglichen mit 38,7% bei DANIEL et al. (1982). Der Prozentsatz der vorliegenden Untersuchung entspricht dem von PEARSON et al. (1979) und ANONYM (1980). HILL et al. (1978) nahmen an, daß dies durch eine rapide Elimination von Mikroorganismen

aus dem Euter verursacht wird, vor allem bei coliformen Infektionen. Manche Erreger mögen den Einfrierungsvorgang nicht überlebt haben, aber da der Prozentsatz der bakteriologisch negativen Proben ähnlich dem von PEARSON et al. (1979) ist, der bei seiner Untersuchung die Milchproben nicht eingefroren hat, ist dies wohl zu vernachlässigen.

MUNCH-PETERSEN et al. (1965) berichteten, daß vielen Fällen klinischer Mastitis (vor allem Staph. aureus) subklinische Infektionen vorangehen; dies wird in vorliegender Untersuchung bestätigt. Aus Tab. 3 kann man ersehen, daß in 7 Herden Kühe mit klinischer Mastitis im Monat vor ihrer Erkrankung Zellzahlen aufwiesen, die 1-4x höher waren als der Herdendurchschnitt. Auf der anderen Seite zeigte Betrieb K das genaue Gegenteil, nämlich Kühe mit Zellgehalten vor ihrer klinischen Mastitis, die weit unter dem Herdendurchschnitt lagen. Dieser Betrieb wurde weiter untersucht. Tab.4 läßt erkennen, daß der Zellgehalt der Anlieferungsmilch während der letzten drei Jahre zu einer extrem niedrigen Stufe reduziert wurde und daß Kühe einen sehr niedrigen Zellgehalt aufwiesen, bevor sie an klinischer Mastitis erkrankten. In dieser Herde wurde während der letzten fünf Jahre eine außergewöhnlich gute Mastitiskontrolle praktiziert, dennoch traten während der letzten zwei Jahre erhebliche Probleme mit Mastitiserkrankungen auf. Erreger, die während der letzten zwölf Monate von klinischen Mastitisfällen in dieser Herde isoliert wurden, schlossen vor allem "in der Umgebung vorkommende" Organismen ein, z.B. Serratia, Strept. uberis, Coliforme und kein einziges Mal Staph. aureus.

Es ist möglich, daß die natürlichen Abwehrmechanismen dieser Kühe durch die Reduzierung der Durchschnittszellzahlen derartig herabgesetzt wurden - vor allem durch generelles medikamentelles Trockenstellen aller Kühe -, daß diese Tiere schutzlos sind gegen Erreger, die aus der Umwelt eindringen. COLDITZ et al. (1985) raten davon ab, die somatischen Zellzahlen in der Milch drastisch zu reduzieren. FROST (1985) empfiehlt "selektives Trockenstellen" in Herden mit niedrigen Zellzahlen.

Der Zellgehalt der Anlieferungsmilch wurde als Hilfsmittel zur Mastitiskontrolle herangezogen, aber er weist nur auf subklinische Mastitiden hin (GUTERBOCK et al., 1984) und wird nur selten mit dem Vorkommen von klinischer Mastitis in einer Herde in Verbindung gebracht. In der vorliegenden Untersuchung konnte kein Zusammenhang zwischen dem Zellgehalt der Anlieferungsmilch und der Anzahl von klinischen Mastitisfällen nachgewiesen werden.

Im allgemeinen wird angenommen, daß Kühe anfälliger für Euterinfektionen sind, wenn sie sich im frühen Laktationsstadium befinden (OLIVER et al., 1956; CASSEL et al., 1978; DANIEL et al., 1982) und dies wird durch vorliegende Untersuchung bestätigt mit 13,7% Auftretens von Mastitis in der ersten Woche und 39,2% in den ersten beiden Monaten (Tab.2). Im fünften und sechsten Monat kam es noch einmal zu einem Anstieg (Abb.1), für den keine Gründe gefunden werden konnten. Die Berichte, daß ältere Kühe mit einer größeren Häufigkeit an klinischer Mastitis erkrankten als jüngere (DANIEL et al., 1982; MUNCH-

PETERSEN, 1970), stehen in Übereinstimmung mit vorliegenden Ergebnissen (Abb.4), bei denen 1% der dreijährigen Kühe an klinischer Mastitis erkrankten, verglichen mit 5% der zehnjährigen (und älteren) Kühe.

In der vorliegenden Untersuchung wurde kein Zusammenhang gefunden zwischen der Größe der Herde und dem Zellgehalt der Anlieferungsmilch, ebenso wenig wie zwischen Herdengröße und Anzahl der klinischen Mastitisfälle. Dies steht in Übereinstimmung mit MUNCH-PETERSEN et al. (1965), der ebenfalls keine Korrelation zwischen der Anzahl von Kühen mit hohen Zellzahlen und Herdengröße fand. Dies scheint darauf hinzudeuten, daß das Auftreten von klinischen und subklinischen Mastitiden mehr mit dem individuellen Management zusammenhängt als mit der Größe der Herde.

Aus Abb.5 kann man ersehen, daß mit dem Ansteigen der durchschnittlichen Milchproduktion in einer Herde auch eine Tendenz zu einer steigenden Anzahl von Fällen klinischer Mastitis besteht.

62,8% der Fälle traten in den beiden Hintervierteln auf, was den Untersuchungen von WALSER et al. (1972) in Deutschland und von DANIEL et al. (1982) in QLD/Australien entspricht. Der größere Umfang und die größere Verletzlichkeit der Hinterviertel wird im allgemeinen für das vermehrte Auftreten von Mastitis in diesen Vierteln verantwortlich gemacht.

In den bakteriologisch negativen Proben wurde kein Virus gefunden, was darauf hindeuten könnte, daß virologische Euterinfektionen in dieser Gegend Australiens keine große Rolle spielen. Zur Bestäti-

gung dieser Vermutung werden jedoch weitere Untersuchungen benötigt.

Die Ergebnisse der CIE sind schwierig zu interpretieren und es sollte vielleicht daran erinnert werden, daß sich diese Technik in Australien noch im experimentellen Stadium befindet. Die CIE-positiven Resultate von *Staph. aureus* und *Strept. dysgalactiae* bestätigten die bakteriologischen Ergebnisse.

REMMERS (1975) berichtet von einer 100% Treffsicherheit bei *Strept. agalactiae* im CIE. Auch RÖTTGER (1977) erwähnt die vielen Vorteile der serologischen Untersuchung bei *Strept. agalactiae*. Leider läßt sich das mit vorliegenden Ergebnissen nicht vergleichen, da weder serologisch noch bakteriologisch *Strept. agalactiae* gefunden wurden.

Bei vielen Proben, in denen bei der bakteriologischen Untersuchung *Staph. aureus* und *Strept. dysgalactiae* festgestellt wurden, konnte dies serologisch nicht bestätigt werden. Sie waren im Gegenteil positiv auf *Strept. uberis* im CIE. Diese Ergebnisse könnten darauf hindeuten, daß dieses Verfahren wohl sehr spezifisch - so mußten bei *Staph. aureus* jeder Stamm getestet werden -, aber die Empfindlichkeit nicht sehr ausgeprägt ist.

Bei *Strept. uberis* traten sehr viele falsch positive Resultate auf. Dafür gibt es zwei mögliche Erklärungen. Einmal könnte es sich um echte Kreuzreaktionen mit einem anderen Antigen handeln, zum anderen

spricht der Test vielleicht auf Strept. uberis-Antigen an, das aus einer anderen Quelle als aus dem Euter stammt (FROST, pers. Mittlg.).

Weitere Untersuchungen über diese Technik sind notwendig, bevor die CIE als genaues und zuverlässiges Verfahren zur Erkennung von Mastitis-erregern zugelassen werden kann.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Eine Untersuchung über klinische Mastitis wurde im tropischen "Atherton Tableland" im Nordosten Australiens über einen sechsmonatigen Zeitraum hinweg durchgeführt. Es wurden 104 Viertelgemelkproben von Kühen mit klinischer Mastitis von 27 zufällig gewählten Herden bakteriologisch, virologisch und mit der Countercurrent-Immunoelektrophorese (CIE) untersucht.

Staph. aureus wurde in 30,8% der Fälle als Erreger isoliert, *Strept. dysgalactiae* in 13,5%, *Strept. uberis* in 12,5%, Coliforme in 5,7%, *Pseudomonas* in 6,7%. In keinem der Fälle wurde *Strept. agalactiae* gefunden. Bei 18,3% der Fälle fand kein Kulturwachstum statt; diese Proben wurden auf das Vorhandensein von Mycoplasmen und Viren untersucht, jedoch war das Ergebnis in allen Fällen negativ. 39,2% der Mastitiden ereigneten sich während der beiden ersten Laktationsmonate, 13,7% aller vorkommenden Fälle während der ersten Woche. Mit zunehmendem Alter der Kuh erhöhte sich die Wahrscheinlichkeit einer Mastitiserkrankung.

Alle Proben ohne Kulturwachstum waren CIE-negativ. Alle Proben waren serologisch negativ auf *E. coli* und *Strept. agalactiae*. Bei einigen Proben, bei denen in der bakteriologischen Untersuchung *Staph. aureus* und *Strept. dysgalactiae* gefunden wurden, konnte dies serologisch bestätigt werden.

6. SUMMARY: A SURVEY OF THE INCIDENCE AND
AETIOLOGY OF CLINICAL MASTITIS ON THE
"ATHERTON TABLELAND" IN AUSTRALIA

A survey of clinical mastitis was conducted for six months on the "Atherton Tableland" in tropical North-East Australia. 104 quarter samples of clinical mastitis milk were collected from 27 random herds and cultured for bacteria and also examined serologically. Bacteriologically negative samples were cultured for *Mycoplasma* and virus.

Staph. aureus was isolated from 30,8% of cases, *Strept. dysgalactiae* from 13,5%, *Strept. uberis* from 12,5%, coliforms from 5,7% and *Pseudomonas* spp. from 6,7% of cases. No *Strept. agalactiae* was isolated. 18,3% of cases were culture negative and these were also negative for *Mycoplasma* and virological cultures. 39,2% of cases occurred in the first two months of lactation and 13,7% within the first week. The likelihood of infection increased with the age of the cow.

All samples that were bacteriologically negative on culture, were also serologically negative. No sample was serologically positive for *E. coli* or *Strept. agalactiae*. Some samples that were bacteriologically positive for *Staph. aureus* and *Strept. dysgalactiae* on culture, were also serologically positive for these organisms.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. Alexander, P.G., K.J. Slee, S. McOrist, L. Ireland, P.J. Coloe, 1985:
Mastitis in cows and polyarthritis and pneumonia in calves caused by *Mycoplasma* species bovine group 7.
Aust. vet. J. 62, 135-136.
2. Anonym, 1959:
A survey of clinical mastitis in Queensland.
Ann. Rep. Qd. Dep. Agric. Stock, 1958-1959, 60-64.
3. Anonym, 1980:
Mastitis surveillance scheme - January to June 1980.
Vet. Rec. 107, 297-298.
4. Cassel, E.K., R.P. Natzke, R.W. Everett, 1978:
Factors affecting the percent of quarters infected in a dairy herd.
J. Dairy Sci. 61, 124.
5. Christie, R., N.E. Atkins, E. Munch-Petersen, 1944:
A note on a lytic phenomenon shown by group B streptococci.
Austral. J. Exp. Biol. Med. Sci. 23, 193-197.
6. Colditz, I.G., D.L. Watson, 1985:
The immunophysiological basis for vaccinating ruminants against mastitis.
Aust. vet. J. 62, 145-152.

7. Daniel, R.C.W., D. O'Boyle, M.S. Marek,
A.J. Frost, 1982:
A survey of clinical mastitis in South-East
Queensland dairy herds.
Aust. vet. J. 58, 143-147.
8. Dodd, F.H., F.K. Neave, 1970:
Mastitis control.
Bienn. Rev. Natl. Inst. Res. Dairy, 21-59.
9. Edwards, E.A., G.L. Larson, 1973:
Serological grouping of haemolytic streptococci
by Counter-Immunoelectrophoresis.
Appl. Microbiol. 26, 899-903.
10. Frost, A.J., 1962:
Incidence of udder infection and mastitis in
South-East Queensland.
Aust. vet. J. 38, 110-113.
11. Frost, A.J., 1985:
What's new in mastitis.
In: Proceedings No. 78. Dairy Cattle Production
Refresher Course. 6th-10th May 1985. The
University of Sydney.
12. Frost, A.J., 1985:
Persönliche Mitteilung.
13. Frost, A.J., D. O'Boyle, 1981:
The resistance to antimicrobial agents of
Staphylococcus aureus isolated from the bovine
udder.
Aust. vet. J. 57, 262-267.

14. Gray, D.M., O.W. Schalm, 1960:
The use of the California Mastitis Test.
J. Amer. vet. med. Ass. 136, 195-199.
15. Gray, D.M., O.W. Schalm, 1962:
The mastitis variable in milk yield as
estimated by the California Mastitis Test.
Amer. J. vet. Res. 23, 541-543.
16. Griffin, T.K., R.J. Grindal, R.T. Staker, M.F.H.
Shearn, A.J. Bramley, D.L. Simpkin, T.M. Higgs,
D.L. Weitgarth, 1981:
Effects of deflector shields fitted in the
milking machine teatcup liner on bovine udder
disease.

In: National Institute for Research in
Dairying Annual Report 1981, 34-38.
17. Guterbock, W.M., P.E. Blackmer, J. Duffy, 1984:
Cleaning the milking system.

Vet. Clin. North Am. (Large Anim. Pract.) 6(2),
377-390.
18. Hill, A.W., A.L. Shears, K.G. Hibbitt, 1978:
The elimination of serum-resistant Escherichia
coli from experimentally infected single
mammary glands of healthy cows.

Res. vet. Sci. 25, 89-93.
19. Jackson, E.R., 1980:
The control of bovine mastitis.

Vet. Rec. 107, 37-40.

20. Jarrett, J.A., 1984:
Mechanical milking and its relationship to mastitis.
Vet. Clin. North Am. (Large Anim. Pract.)
6(2), 349-360.
21. Jasper, D.E., J.D. Dellinger, R.B. Bushnell, 1975:
Herd studies on coliform mastitis.
J. Am. vet. med. Ass. 166, 778-780.
22. Johnston, K.G., E.E. Lepherd, P. Lutz, 1966:
Bovine mastitis in the Camden District of
New South Wales.
Aust. vet. J. 42, 405-411.
23. MacKay, R.D., 1984:
The economics of Herd Health Programs.
Vet. Clin. North Am. (Large Anim. Pract.)
6(2), 401-428.
24. Marr, A., 1978:
Letter to the editor.
Vet. Rec. 103, 39.
25. Mayr, A., P.A. Bachmann, B. Bibrack, G.
Wittmann, 1974:
Virologische Arbeitsmethoden. Bd. 1: Zell-
kulturen, Bebrütete Hühnereier, Versuchstiere.
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.
26. McClure, T.J., K.L. Hughes, A.E. Dowell,
S.M. Murphy, E. Joyce, 1966:
Mastitis in dairy cattle in the Moss Vale
District of New South Wales.
Aust. vet. J. 42, 194-198.

27. McDonald, J.S., 1984:
Streptococcal and staphylococcal mastitis.
Vet. Clin. North Am. (Large Anim. Pract.)
6(2), 269-285.
28. Munch-Petersen, E., 1970:
Mastitis in bovine primiparae.
Vet. Rec. 87, 568-574.
29. Munch-Petersen, E., M.R. Gardiner, 1965:
Staphylococci in secretions from the bovine
udder in Western Australia.
Aust. vet. J. 41, 5-13.
30. Oliver, J., E.H. Dodd, F.K. Neave, G.L. Bailey, 1956:
Variations in the incidence of udder infection and
mastitis with stage in lactation, age and season
of the year.
J. Dairy Res. 23, 181-193.
31. Olsen, S.J., 1975:
A mastitis control system based upon extensive
use of mastitis laboratories.
In: Proc. Seminar on Mastitis Control.
Int. Dairy Fed. Bull. 85, 410-421.
32. Pankey, J.W., 1984:
Postmilking teat antisepsis.
Vet. Clin. North Am. (Large Anim. Pract.) 6(2),
335-348.

33. Pearson, J.K.L., D.P. Mackie, 1979:
Factors associated with the occurrence, cause
and outcome of clinical mastitis in dairy cattle.
Vet. Rec. 105, 456-463.
34. Philpot, W.N., 1984:
Economics of mastitis control.
Vet Clin. North Am. (Large Anim. Pract.) 6(2),
233-245.
35. Pulsford, M.F., 1954:
Bovine mastitis in South-Australia.
Aust. vet. J. 30, 245-248.
36. Remmers, J., 1975:
Bestimmung der B-Streptokokken (Sc. agalactiae)
mit Hilfe serologischer Methoden (Präzipitation,
FA-Technik) und im CAMP-Test.
Arch. LM-Hyg. 26, 104-106.
37. Röttger, B., 1977:
Untersuchung zur direkten serologischen Be-
stimmung von B-Streptokokken (Sc. agalactiae)
in Milchproben.
Arch. LM-Hyg. 28, 15-17.
38. Sathyanarayana Moorthy, A.R., 1977:
Studies on equine mycoplasmas and other agents
infecting horses in Australia.
Doctor of Philosophy thesis.
University of Queensland, Brisbane.

39. Schalm, O.W., D.O. Noorlander, 1957:
Experiments and observations leading to
development of the California Mastitis Test.
J. Amer. vet. med. Ass. 130, 199-215.
40. Shotts, E.B., A.T. Leard, 1984:
Microbiologic aspects of mastitis diagnosis.
Vet. Clin. North Am. (Large Anim. Pract.) 6(2),
247-255.
41. Slavin, D., 1948:
A simple method of identifying Streptococcus
agalactiae.
J. comp. Path. 58, 161-166.
42. Slee, K.J., S. McOrist, 1985:
Mastitis due to a group of pyogenic bacteria.
Aust. vet. J. 62, 63-65.
43. Storper, M., G. Ziv, A. Saran, 1982:
Effect of storing milk samples at -18°C on
the viability of certain udder pathogens.
Refuah Vet. 39, 6-7.
44. Tarry, D.W., C.D. Wilson, P. Stuart, 1978:
The headfly *Hydrotaea irritans* and summer
mastitis infection.
Vet. Rec. 102, 91-99.

45. Tompkins, L.J., W.N. Plastridge, C.S. Bryan, 1946:
Bovine Mastitis.

Little, R.B. und Plastridge, W.N. (hrsg.)
McGraw Hill, New York.
46. Waite, R., P.S. Blackburn, 1963:
The relationship between milk yield, composition
and tissue damage in a case of subclinical mastitis.

J. Dairy Res. 30, 23-33.
47. Walser, K., E. Bieber, G. Dannerbeck, M. Gropper,
M. Hropot, H. Lanckenfeld, J. Mayer, H. Verghe,
M. Viktor, 1972:
Die akute Infektion der Milchdrüse.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 85, 344-349.
48. Wanasinghe, D.D., A.J. Frost, 1979:
The prevalence of udder infection and mastitis in
herds producing bulk milk with either consistently
high or low cell count.

Aust. vet. J. 55, 374-380.

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. mult. A. Mayr danke ich recht herzlich für die Übernahme und Betreuung der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Dr. A. J. Frost an der University of QLD/Australien für die Überlassung des Themas und seine hilfreiche Beratung bei der Durchführung dieser Arbeit. Ebenso danke ich seinen Mitarbeiterinnen im mikrobiologischen Labor für die freundliche Aufnahme und Unterstützung.

Bedanken möchte ich mich auch bei Dr. P. B. Spradbrow für seine gern gewährte Hilfe bei der Erarbeitung des virologischen Teils.

Herrn Kazal danke ich für die großzügige Überlassung der Antisera.

LEBENS LAUF

Name : Irmgard Chamberlain, geb. Gropper
Geboren am : 18.03.1954
Geburtsort : Memmingen
Vater : Dr. Karl Gropper, prakt. Tierarzt
Mutter : Elisabeth Gropper, geb. Weiner, Apothekerin
Volksschule : 1960-1964 in Wolfertschwenden
Gymnasium : 1964-1973 am Bernhard-Strigel-Gymnasium
in Memmingen
Studium : Vom Wintersemester 1973/74 bis zum Sommer-
semester 1974 Studium der Agrarwissen-
schaften in Hohenheim
Vom Wintersemester 1975/76 bis zum Sommer-
semester 1977 Studium der französischen
Philologie an der LMU München
Ab Wintersemester 1978/79 Studium der
Tiermedizin an der FU Berlin
Zum Sommersemester 1979 Wechsel an die
LMU München
Vorphysikum 1979
Physikum 1980
Approbation erteilt am 17.01.1984
Auslandsauf-
enthalt : Von 1984-1985 einjähriger Aufenthalt in
Australien zur Anfertigung vorliegender
Arbeit
Seit 01.11.1985 in der Praxis Dr. Gropper
in Wolfertschwenden als Assistentin tätig.

VERZEICHNIS

1. Einleitung	1
2. Die Aufgabenstellung	2
3. Die Untersuchungsmethoden	3
4. Die Untersuchungsergebnisse	4
5. Die Diskussion	5
6. Die Zusammenfassung	6
7. Die Literatur	7
8. Die Anlagen	8
9. Die Tabellen	9
10. Die Abbildungen	10
11. Die Formeln	11
12. Die Symbole	12
13. Die Abkürzungen	13
14. Die Bibliographie	14
15. Die Zusammenfassung	15
16. Die Literatur	16
17. Die Anlagen	17
18. Die Tabellen	18
19. Die Abbildungen	19
20. Die Formeln	20
21. Die Symbole	21
22. Die Abkürzungen	22
23. Die Bibliographie	23
24. Die Zusammenfassung	24
25. Die Literatur	25
26. Die Anlagen	26
27. Die Tabellen	27
28. Die Abbildungen	28
29. Die Formeln	29
30. Die Symbole	30
31. Die Abkürzungen	31
32. Die Bibliographie	32
33. Die Zusammenfassung	33
34. Die Literatur	34
35. Die Anlagen	35
36. Die Tabellen	36
37. Die Abbildungen	37
38. Die Formeln	38
39. Die Symbole	39
40. Die Abkürzungen	40
41. Die Bibliographie	41
42. Die Zusammenfassung	42
43. Die Literatur	43
44. Die Anlagen	44
45. Die Tabellen	45
46. Die Abbildungen	46
47. Die Formeln	47
48. Die Symbole	48
49. Die Abkürzungen	49
50. Die Bibliographie	50
51. Die Zusammenfassung	51
52. Die Literatur	52
53. Die Anlagen	53
54. Die Tabellen	54
55. Die Abbildungen	55
56. Die Formeln	56
57. Die Symbole	57
58. Die Abkürzungen	58
59. Die Bibliographie	59
60. Die Zusammenfassung	60
61. Die Literatur	61
62. Die Anlagen	62
63. Die Tabellen	63
64. Die Abbildungen	64
65. Die Formeln	65
66. Die Symbole	66
67. Die Abkürzungen	67
68. Die Bibliographie	68
69. Die Zusammenfassung	69
70. Die Literatur	70
71. Die Anlagen	71
72. Die Tabellen	72
73. Die Abbildungen	73
74. Die Formeln	74
75. Die Symbole	75
76. Die Abkürzungen	76
77. Die Bibliographie	77
78. Die Zusammenfassung	78
79. Die Literatur	79
80. Die Anlagen	80
81. Die Tabellen	81
82. Die Abbildungen	82
83. Die Formeln	83
84. Die Symbole	84
85. Die Abkürzungen	85
86. Die Bibliographie	86
87. Die Zusammenfassung	87
88. Die Literatur	88
89. Die Anlagen	89
90. Die Tabellen	90
91. Die Abbildungen	91
92. Die Formeln	92
93. Die Symbole	93
94. Die Abkürzungen	94
95. Die Bibliographie	95
96. Die Zusammenfassung	96
97. Die Literatur	97
98. Die Anlagen	98
99. Die Tabellen	99
100. Die Abbildungen	100

Das ist die Zusammenfassung der Arbeit.

